مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۲، شماره ۱، سال ۱۳۹۵

خودناسازگاری گرده و تعیین گرده‌دهنده مناسب برای بـــه (*Cydonia oblonga* Mill.) رقم اصفهان

Pollen Self-incompatibility and Determination of Appropriate Pollinizer for Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) Cultivar Isfahan

حسن اکبری بیشه[۱]، حمید عبداللهی[۲]، محمد ترکاشوند[۳] و ایوبعلی قاسمی[۴]

۱ و ۴- به ترتیب کارشناس ارشد و استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۳- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم باغبانی، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۲۳

چکیده

اکبری بیشه، ح.، عبداللهی، ح.، ترکاشوند، م. و قاسمی، ا. ۱۳۹۵. خودناسازگاری گرده و تعیین گرده‌دهنده مناسب برای به (*Cydonia oblonga* Mill.) رقم اصفهان. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲:** ۲۶-۱۳.

در کشور ایران رقم غالب درخت به، رقم اصفهان است که این رقم عمدتاً تشکیل میوه نسبتاً کم و تراکم بار محدودی در باغ‌های فاقد رقم گرده‌زا دارد. به منظور بررسی سطح خودناسازگاری و تعیین بهترین ژنوتیپ گرده‌دهنده برای رقم تجارتی به اصفهان، در این تحقیق اثر دانه گرده چهار ژنوتیپ به، به عنوان رقم گرده‌دهنده بر درصد تشکیل میوه و خصوصیات کمی و کیفی میوه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در اصفهان به مدت سه سال (۱۳۸۵ تا ۱۳۸۷) مورد مطالعه قرار گرفت. رقم به اصفهان با چهار ژنوتیپ گرده‌دهنده شامل KM1، KVD2، PK2 و NB4 به همراه تیمار خودگرده‌افشانی و گرده‌افشانی آزاد به عنوان شاهد، گرده‌افشانی شد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین درصد تشکیل میوه، بین تیمارهای گرده‌افشانی، به جزء دو تیمار گرده‌دهنده KVD2 و NB4 اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیش‌ترین میزان تشکیل میوه در به اصفهان با ۲۳/۴۲ درصد مربوط به ژنوتیپ KM1 و کم‌ترین میزان تشکیل میوه با ۸/۴ درصد مربوط به تیمار خودگرده‌افشانی بود. مقایسه میانگین اثر تیمارهای گرده‌افشانی بر وزن میوه بیانگر اختلاف معنی‌داری تیمار گرده ژنوتیپKM1 با سایر تیمارها بود. ژنوتیپ KM1 با هم‌پوشانی گلدهی مطلوب و بالاترین درصد تشکیل میوه و همچنین بیش‌ترین تعداد بذر به ازاء میوه، به عنوان بهترین گرده دهنده برای به رقم اصفهان شناسائی شد. بررسی وجود آلل‌های *S* در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه حاکی از تکثیر آلل‌های این مکان ژنی در اغلب ژنوتیپ‌ها بود، لیکن استفاده از ژنوتیپ‌های دارای دو آلل *S* شامل دو ژنوتیپ KM1 و NB4، تشکیل بذر بیش‌تری را در میوه‌های به رقم اصفهان به همراه داشت.

واژه‌های کلیدی: به، ژنوتیپ، گرده‌افشانی، آلل *S*، نیمه‌خودسازگاری.

نویسنده مسئول: hamidabdollahi@spii.ir تلفن: ۰۲۶۳۶۷۰۲۵۴۱

مقدمه

درخت به با نام علمی *Cydonia oblonga* Mill. متعلق به خانواده گل‌سرخیان (Rosaceae) و زیرخانواده دانه‌داران (Pomoideae) است (Westwood, 1993). این گونه به صورت وحشی و یا نیمه اهلی در جنگل‌های شمال ایران از آستارا تا کتول گرگان گسترده شده است (Sabeti, 1995). در بین انواع درختان میوه دانه‌دار مورد کشت و کار در مناطق مختلف کشور، درخت به و میوه آن به دلیل تنوع ژنتیکی و کیفیت میوه از جایگاه ویژه‌ای برخوردار بوده و در کم‌تر کشوری چنین گستره تولید و تنوع ارقام و ژنوتیپ‌های آن قابل مشاهده است. از جمله مهم‌ترین ارقام بومی گزینش شده به در کشور می‌توان به ارقام اصفهان گورتون، شمس، نیشابور و ترش آذربایجان اشاره کرد که از میان این ارقام، به اصفهان از نظر کیفیت میوه، بیش از سایر ارقام مورد استقبال قرار گرفته و به عنوان تنها رقم تجاری به در کشور توسعه یافته است (Razavi *et al*., 1999 ؛Manee, 1994). بر اساس آمار وزارت جهاد کشاورزی، استان اصفهان با سطح زیر کشت بیش از ۱۲۵۰ هکتار و تولید سالیانه حدود ۱۲ هزار تن، اصلی‌ترین استان تولید کننده میوه به درکشور است (Anonymous, 2013). خصوصیات شاخص میوه به رقم اصفهان شامل کیفیت عالی، درشتی میوه، رنگ زرد طلایی پوست میوه و عطر و طعم خاص بافت آن بوده و به همین دلیل بیش از سایر ارقام بومی و محلی به مورد توجه قرارگرفته است (منیعی، ۱۹۹۴).

بررسی اجمالی باغ‌های به، نشان می‌دهد که در این درخت نیز همانند سایر درختان میوه دانه‌دار تولید شکوفه به وفور و تشکیل میوه با فراوانی پائین‌تری صورت انجام می‌شود. بدون شک میزان تولید میوه در درخت به نوع رقم، سال و شرایط خاص آن باغ وابسته است. بندک و همکاران (Benedek *et al*., 2001) در بررسی روی میزان تشکیل میوه و ریزش‌های مختلف میوه به رقم اکمک در منطقه وان ترکیه، میزان تشکیل میوه نهائی را در این رقم طی دو سال به ترتیب ۱۲/۳ و ۸/۶ درصد گزارش کردند. بر اساس بررسی آن‌ها میزان تبدیل شکوفه به میوه در محدوده ۲۰ تا ۲۵ درصد برای باردهی مطلوب درخت به مناسب است. عوامل متعددی در باردهی درخت به موثر است، لیکن در کنار عوامل اولیه نظیر سلامت و تغذیه درخت، دو عامل شامل ساختار باردهی و پراکنش تولید شاخه‌های بارده یا اسپورها (Alipour *et al*., 2014) و گرده‌افشانی کافی (Benedek *et al*., 2001) از اهمیت بیش‌تری برخوردار است. بر اساس تحقیق دری و همکاران (Déri *et al*., 2006) روی تولید شهد در شکوفه‌های درخت به، گزارش شده که گلوکز، فروکتوز و ساکاروز سه قند اصلی شهد شکوفه‌های این درخت بوده و ساکاروز به عنوان قند غالب شهد تشخیص

داده شـد. همچنـین میـزان غلظـت شـهد در ژنوتیپ‌هـای بـه مـورد بررسـی حـاکی از جلـب زنبور کافی توسط شهد موجود بوده است.

از دیگر عوامل موثر در تشکیل میوه درختان میوه دانه‌دار، میزان خودسازگاری گـرده اسـت. اغلـب درختـان خـانواده گلسـرخیان دارای خودناسازگاری گامتوفیتیک هسـتند کـه توسـط یک مکان ژنی با چندین آلل *S* کنترل مـی‌شـود (Zisovich *et al*., 2004). اخیراً مشخص شـده که خودناسازگاری گامتوفیتیک در نتیجـه تـاثیر متقابـل S-RNase درحـال تظـاهر در خامـه و هاپلوتایپ اختصاصی F-box لوله گرده ایجاد و پذیرش و یا عدم پذیرش لوله گرده توسط خامه در اثر متقابـل پـروتئین‌هـای تولیـدی ایـن ژن‌هـا تعیین مـی‌شـود (Ushijima *et al*., 2003). ایـن مکـان‌هـای F-box دارای درجـات مختلفـی از تنوع ژنتیکی بوده و این کـه کـدام یـک از ایـن F-box تعیین کننده نهائی ناسـازگاری اسـت بـه طور کامل مشخص نیسـت. درخـت بـه در اکثـر منابع به عنوان یک درخت خودسـازگار معرفـی شده است (منیعـی، ۱۹۹۴؛ Westwood, 1993) لیکن بر اساس شـواهد ارائـه شـده در مـورد اثـر متقابل آلل‌های *S* و مکان‌های F-box این سئوال مطرح است که استفاده از گرده غیر تا چه اندازه می‌تواند در بهبود و افـزایش بـاردهی ارقـام ایـن درخـت مثمرثمـر واقـع شـود. بـر اسـاس یـک تقسیم‌بندی، ارقام به از نظر خودگرده‌افشـانی بـه چهار گروه ارقام خودسازگار بـا میـزان تشـکیل میوه بالاتر از ۱۰ درصد، ارقام نیمه خودسـازگار، با میزان تشکیل میـوه در حـدود ۳ تـا ۸ درصـد، ارقام نیمه‌خودناسازگار با میزان تشکیل میوه ۱ تا ۲ درصد و ارقام کاملاً خودناسازگار طبقه‌بنـدی می‌شوند (Nagy-Déri *et al*., 2013). بر اساس ایـن طبقـه‌بنـدی، ارقـام نیمـه خودسـازگار، اگـر همراه با گرده‌دهنده کشت شوند، میزان باروری از سالی به سال دیگر فرق می‌کند. همچنین ارقام نیمه‌خودناسازگار و کاملاً خودناسـازگار، بـرای تشکیل میوه نیازمند به ارقام گرده‌زای مناسـب و سـازگار هسـتند. ارشـوو (Ershov, 1989) در بررسی میزان خودسـازگاری ۲۳ رقـم بـه منـاطق مختلـف یوگسـلاوی سـابق، گـزارش کـرد کـه طیـف گسـترده‌ای از خودسـازگاری در ارقام به مشاهده شده و از ایـن بـین پـنج رقـم از ارقـام مـورد بررسـی کـاملاً خودسـازگار و سـایر ارقـام میـزان متفـاوتی از خودناسـازگاری بروز دادند. این نتـایج بـا تحقیـق نـوتزو و روبـی (Nuzzo and Rubbi, 2004) در رابطـه بـا مطالعه خودناسازگاری ارقام به در ایتالیـا منطبـق است، به صورتی که از ۲۲ رقم به مورد بررسی، نشـان داده شـد کـه اکثـر آن‌هـا خـود ناسـازگار بودنـد و بـرای تولیـد محصـول نیـاز بـه دگرگرده‌افشانی داشـتند و همچـنین تعـدادی از ارقام خودسـازگار بودنـد کـه ترجیحاً بـرای بـه دست‌آوردن میوه بهتر، لازم است که دگرگرده افشانی شوند.

در بررسی باغ‌های به احداث شده به صورت تک رقم بـا اسـتفاده از بـه اصـفهان، بـاردهی در بیش‌تر سال‌ها از میانگین عملکـرد متوسـط ۷ تـا

۱۰ تن در هکتار برخوردار است. متوسط عملکرد پائین‌تر باغ‌های به ایران در مقایسه با باغ‌های به کشورهای ازبکستان و ترکیه که به ترتیب در حدود ۱۰ و ۹/۸ تن در هکتار گزارش شده است (Anonymous, 2011) در درجه اول به ساختار باردهی و تولید اسپور کم در رقم غالب باغ‌های به کشور باز گشته (علیپور و همکاران، ۲۰۱۴) و در کنار آن عدم استفاده از رقم گرده‌دهنده می‌تواند به عنوان عاملی مکمل و جانبی در کاهش بخشی از عملکرد این باغ‌های موثر باشد. بر این اساس در تحقیق حاضر به بررسی مقدماتی میزان خودسازگاری در به رقم اصفهان در مقایسه با گرده‌افشانی آزاد پرداخته شد و سپس اثر گرده سایر ژنوتیپ‌ها روی باردهی و خصوصیات میوه این رقم مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق اثر دانه گرده چهار ژنوتیپ درخت به، به عنوان گرده‌دهنده بر میزان باروری و تشکیل میوه و همچنین خصوصیات کمی و کیفی میوه به رقم اصفهان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار به مدت سه سال (۱۳۸۵ تا ۱۳۸۷) در استان اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. ارقام گرده‌دهنده مورد استفاده شامل ژنوتیپ‌های KM1، PK2، KVD2 و NB4 بودند. علاوه بر گرده چهار رقم گرده‌دهنده مورد استفاده، دو تیمار گرده‌افشانی آزاد و خودگرده‌افشانی نیز روی رقم به اصفهان به عنوان تیمار شاهد مورد استفاده قرار گرفت.

برای انجام تیمارهای گرده‌افشانی، در هر تیمار چهار درخت که از نظر سن، وضعیت رشد رویشی و سطح گسترش تاج یکنواخت بوده و در ردیف‌های منظم کشت شده بودند، انتخاب و علامت‌گذاری شدند. با بالونی شدن جوانه‌های گل، شش شاخه مناسب و یکنواخت در جهات مختلف هر درخت به طور تصادفی انتخاب و با شمارش جوانه هر شاخه، با کیسه‌های پارچه‌ای ململ پوشانده شدند. کلیه شکوفه‌های موجود در کیسه‌های ایزولاسیون با استفاده از پنس در مرحله قبل از باز شدن شکوفه‌ها و قبل از ترکیدگی کیسه‌های بساک اخته شدند. در نیمه دوم فروردین ماه از ارقام گرده‌دهنده، شاخه گل‌دار تهیه و در آزمایشگاه دانه گرده از آن‌ها جمع‌آوری و در ظروف شیشه‌ای کوچک در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در مجاورت پرمنگنات پتاسیم به عنوان ماده جاذب رطوبت در داخل یک دسیکاتور شیشه‌ای تا زمان انجام عمل گرده‌افشانی نگهداری شدند. برای اطمینان از قدرت جوانه‌زنی دانه‌های گرده جمع‌آوری شده، آزمون تعیین درصد جوانه زدن دانه‌های گرده انجام شد. به این منظور، دانه‌های گرده هر ژنوتیپ به تفکیک در ظروف شیشه‌ای که حاوی محلول ۱۰ درصد ساکاروز و ۲۰ قسمت در میلیون اسید بوریک بودند توزیع شده و در شرایط اتاق رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

قرار داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت با استفاده از بینوکولر درصد جوانه‌زنی گرده هر یک از ژنوتیپ‌ها به طور جداگانه در پنج تکرار تعیین شد.

زمانی که اکثر گل‌های شاخه‌های ایزوله شده باز و کلاله مادگی آن‌ها آماده پذیرش دانه گرده شد، هریک از شاخه‌های ایزوله شده از کیسه خارج شدند و گل‌های آن‌ها با گرده ژنوتیپ‌های مورد نظر با استفاده از قلم موهای کوچک و یا پاکن انتهای مداد گرده‌افشانی دستی شد. گل‌های گرده‌افشانی شده مجدداً شمارش و با کیسه‌های ایزولاسیون پوشانده شدند. برای اطمینان از عمل گرده‌افشانی کامل، دو روز بعد مجدداً شکوفه‌های ایزوله شده دوباره با گرده مورد نظر گرده‌افشانی دستی شدند. تعداد میوه تشکیل شده پس از ریزش خرداد ماه زمانی که قطر میوه حدود ۳ تا ۴ سانتی‌متر رسیده بود شمارش و ثبت شد. با توجه به عدم امکان بقاء میوه‌های پارتنوکارپ و میوه‌های دارای جنین ناقص در به پس از ریزش خرداد ماه، به منظور جلوگیری از شمارش میوه‌های دارای بذر سقط شده، شمارش میوه‌ها به منظور تعیین درصد تشکیل میوه پس از ریزش خرداد ماه صورت انجام شد. تعداد میوه به ازای هر صد گل به صورت درصد محاسبه شد. در طول فصل رشد مراقبت‌های لازم از درختان شامل آبیاری، تغذیه و مبارزه با آفات بر اساس عرف مناطق به‌کاری اصفهان انجام شد. با فرارسیدن زمان برداشت محصول، مجدداً تعداد میوه در هر تیمار شمارش و برداشت و پس از انتقال به آزمایشگاه، صفات کمی و کیفی میوه‌های حاصل از هر تیمار گرده‌افشانی به طور جداگانه اندازه‌گیری شد.

صفات مورد نظر در مرحله گلدهی شامل تاریخ شروع گلدهی به صورت زمانی که ۱۰ درصد گل‌ها باز شده و تاریخ تمام گل به صورتی که ۹۰ درصد گل‌ها کاملاً باز شده بودند، در کنار صفات طول دوره گلدهی همراه با صفت زمان پایان گلدهی بررسی شد. صفات میوه مورد نظر مشتمل بر ابعاد میوه، میزان مواد جامد محلول، میزان سفتی بافت و اسیدیته میوه بود. همچنین در این مرحله صفت تعداد بذر کامل تشکیل شده درون هر میوه مورد بررسی و یادداشت برداری قرار گرفت. ابعاد میوه به وسیله کولیس، میزان مواد جامد محلول نمونه‌ها به وسیله دستگاه رفراکتومتر، میزان سفتی بافت میوه به وسیله پنترومتر و اسیدیته میوه به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال اندازه‌گیری شد. داده های سه ساله هر تیمار بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی در نرم افزار SAS و تجزیه واریانس مرکب و میانگین تیمارها با آزمون LSD مقایسه شدند. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل (Excel Microsoft, 2003) رسم شدند.

استخراج DNA و ارزیابی امکان تکثیر آلل‌های *S*

ارقام به مورد استفاده در تحقیق برای استخراج DNA و بررسی امکان جداسازی و

استخراج آلل‌های *S* مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور استخراج DNA ژنومی، برگ‌های جوان و سالم در آخر اردیبهشت ماه برداشت و تا زمان استخراج، در ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. با توجه به تجمع بالای ترکیبات پلی ساکاریدی و مواد فنلی در بافت‌های برگی برداشت شده، از روش تلفیقی CTAB-SDS به‌عنوان روش مناسب برای استخراج DNA استفاده شد (Khorramdel Azad *et al.,* 2008). به منظور تخلیص DNA ژنومی، ۲۰ میلی گرم بافت برگ فریز شده در حضور نیتروژن مایع آسیاب شده و دیواره‌سلولی بافت آسیاب شده توسط ۶۰۰ میکرولیتر بافر استخراج ۶۵ درجه سانتی گراد حاوی Tris-HCl، EDTA و SDS (pH=8) به‌ترتیب با غلظت‌های ۱۰۰، ۱۰ و ۴۰ میلی‌مولار به علاوه یک درصد PVP هضم شدند. نمونه‌های استخراجی با استفاده از ۱۵ میکرولیتر بتا- مرکاپتواتانول و ۵ میکرولیتر پروتئیناز K و نگهداری در ۵۵ و سپس در ۶۵ درجه سانتی گراد در حضور ۱۶۸ میکرولیتر کلرید سدیم ۵ مولار و ۷۸ میکرولیتر CTAB ۱۰ درصد هر کدام به مدت ۳۰ دقیقه، به‌ترتیب، عاری از آلودگی‌های پروتئینی و ترکیبات پلی‌ساکاریدی- فنولی شد. هضم و حذف کامل پروتئین‌های هیستونی با دو مرحله شستشو در یک حجم محلول کلروفرم- ایزوآمیل الکل ۱:۲۴ و یک مرحله در نیم حجم محلول ۵ مولار آمونیم استات صورت انجام شد. حذف RNA با ۴ میکرولیتر RNase-A و رسوب و انعقاد DNA طی دو مرحله تعلیق در ۳:۲ حجم ایزوپروپانول سرد و سپس اتانول مطلق انجام شد. خلوص و غلظت DNA استخراج شده به وسیله الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد و سپس روش اسپکتروفتومتریک در طول موج‌های ۲۳۰، ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفته و مقدار و غلظت DNA مورد نیاز هر نمونه جهت انجام PCR بهینه‌سازی شد.

واکنش PCR

جفت آغازگر FB-F و FB-R که قبلاً توسط بابائی و همکاران (Babaei *et al*., 2012) جهت تکثیر آلل‌های *S* گونه‌های مختلف گلابی در نواحی حفاظت شده این مکان ژنی طراحی شده بود جهت انجام واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. واکنش PCR با این جفت آغازگر در حجم ۲۵ میکرولیتر با اجزاء واکنش شامل ۵۰ نانوگرم DNA الگو، ۲/۷۵ میکرولیتر بافر PCR ۱۰ برابر، ۲/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیوم، ۰/۶ میکرومولار از هر یک از آغازگرهای پیشرو و پیرو، ۰/۳ میلی‌مولار مخلوط نوکلئوتیدی و ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase ۵ واحدی انجام شد. پروفایل حرارتی ترموسایکلر مطابق با ۳ دقیقه واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، ۴۵ ثانیه واسرشته سازی در

۹۴ درجـه سـانتی‌گـراد، ۴۰ ثانیـه در ۵۸ درجـه سانتی‌گراد جهت اتصال آغازگرهـا و ۱ دقیقـه و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به عنـوان مرحله بسط واکنش و یک مرحله بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمـای ۷۲ درجـه سـانتی‌گـراد تهیه و مراحل ۲ تـا ۴ بـا ۴۰ چرخـه تکـرار شـد. محصـــولات تکثیـــری واکـــنش‌هـــا بوســـیله الکتروفورز در ژل آگارز ۲ درصد در بافر TAE و ولتاژ ۶۵ ولت از یک دیگر تفکیک شده و در اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و زیـر اشـعه‌ی UV قابل رویت شدند. محاسبه وزن باندها با اسـتفاده از لدر[۳۲۳] ۱۰۰۰ bp صورت انجام شد و محصـول واکنش‌های PCR به منظـور اطمینـان از صـحت قطعه تکثیری توالی‌یابی شدند.

نتایج و بحث

اثر گرده‌افشانی بر باروری

تجزیه مرکـب داده‌هـای مربـوط بـه بررسـی تاثیر نوع گرده روی صفات مورد بررسـی، اعـم از صفات مرتبط با درصد باروری شـکوفه، وزن میوه و متوسط تعداد بذر در میوه بیانگر معنی‌دار بودن تاثیر نوع گرده بر میزان باروری به اصفهان بود، در حالی که اثر سال و اثـر متقابـل سـال در تکرار و سال در تیمـار بـر هـیچ‌کـدام از صـفات معنی‌داری نبود (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین درصد تشکیل میـوه بـه رقم اصفهان نشان داد که بین تیمارهای مختلـف گرده‌افشانی بـه جـزء KVD2 و NB4 اخـتلاف معنـی‌داری در سـطح ۵ درصـد مشـاهده وجـود داشت (جدول ۲). بیش‌ترین میزان تشکیل میـوه با ۲۳/۴ درصد مربوط به گرده ژنوتیـپ KM1 و کم‌ترین میزان تشکیل میوه با ۸/۶ درصد مربوط به تیمار خودگرده‌افشـانی بـه اصـفهان بـود. بـین ژنوتیپ‌های NB4 بـا ۱۸/۵ درصـد و KVD2 بـا ۲۰/۴ درصد میزن تشـکیل میـوه از نظـر آمـاری اختلاف معنـی‌داری مشـاهده نشـد. بـا توجـه بـه نتایج، گرده ژنوتیپ KM1 بیش‌ترین تأثیر را بـر درصد باروری گل‌ها و تشکیل میوه در بین تمام تیمارها از خود نشان داد و بعد از آن تیمار گرده KVD2 بیش‌ترین درصد تشکیل میوه را داشت. با توجه به خصوصیات مناسب ژنوتیپ KM1 از نظر زمان گلدهی، گلـدهی مـنظم، تـراکم زیـاد گـل، عـدم سـال‌آوری و همچنـین هـم پوشـانی مناسـب بـا رقـم بـه اصـفهان بـه عنـوان ارقـام گرده‌زای مناسب برای این رقم قابل ارائه اسـت، ایـــن در حـــالی اســـت کـــه ژنوتیـــپ KVD2 همپوشـانی گلـدهی قابـل تـوجهی بـا ژنوتیـپ KVD3 نداشت. از نظر درصد تشکیل میـوه نیـز دو تیمار گرده ژنوتیپ‌های KM1 و KVD2 بـر اســـــاس نتـــــایج بنـــــدک و همکـــــاران (Benedek *et al.*, 2001) قـادر بـه ایجـاد مناسب‌ترین میزان باردهی و تشکیل میوه در رقم به اصفهان خواهد شد. از سوی دیگر پایین بودن درصد تشکیل میوه در تیمـار خـودگرده‌افشـانی نشان می‌دهد، به رقم اصفهان از نظر گرده‌افشانی یک رقم نیمه‌خودسازگار است کـه نتـایج ایـن تحقیق از یک‌سو با میـزان تشـکیل میـوه حـدود ۸ درصـــدی در تیمـــار خـــودگرده‌افشـــانی

جدول ۱- تجزیه واریانس مرکب صفات مرتبط با تاثیر نوع گرده بر میزان باروری و وزن میوه

Table 1. Combined analysis of variance of traits related to the effects of pollen type on fertilization and fruit weight

			میانگین مربعات Mean of Squares		
S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	شکوفه‌های بارور Fertilized Blooms	تعداد بذر Seed number	وزن میوه Fruit weight
Year (Y)	سال	2	23.43 ^{ns}	1.54 ^{ns}	2.18 ^{ns}
Y × Rep.	سال × تکرار	9	25.58 ^{ns}	11.81 ^{ns}	1240.00 ^{ns}
Treatment (T)	تیمار	5	68.89 **	689.96 **	19675.8 **
Y × T	سال × تیمار	10	12.36 ^{ns}	2.77 ^{ns}	541.58 ^{ns}
Error	خطا	45	21.85	3.28	475.06

ns و **: به ترتیب تفاوت غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

ns and **: Not significant and significant at 1% probability level, respectively.

جدول ۲- میانگین دو سالانه صفات مرتبط با تاثیر نوع گرده بر میزان باروری و خصوصیات میوه

Table 2. Biennial means of traits related to the effects of pollen type on fertilization and fruit characteristics

گرده‌زا Pollinizer	درصد شکوفه‌های بارور Fertilized blooms	تعداد بذر Seed number	وزن میوه Fruit weight (g)
KM1	23.42a	29.75a	347.92a
PK2	15.93c	20.16c	263.50d
KVD2	20.39b	20.41c	282.17c
NB4	18.49b	26.33b	313.92b
KVD3 (Isfahan)	8.56e	9.42e	230.67e
Open Pollination	11.36d	13.67d	292.00c

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مختلف مشخص شده‌اند، اختلاف معنی دار با یک‌دیگر در سطح احتمال ۱ ٪ دارند.

Means followed by different letters in each column are significantly different at the 1% level of probability.

(نگی- دری و همکاران، ۲۰۱۳) و از سوی دیگر با اثر مثبت دو تیمار گرده ژنوتیپ‌های KM1 و KVD2 مورد تایید قرار گرفت. این نتایج همچنین با بررسی سامی (Sami, 2013) که میزان تشکیل میوه این رقم را در شرایط خودگرده‌افشانی زیر ۸ درصد گزارش کرده بود منطبق است. همچنین بررسی اثر تیمار گرده‌افشانی بر درصد تشکیل میوه نشان داد که میزان باروری در گرده‌افشانی آزاد از خودگرده‌افشانی بیش‌تر بود. این نتایج با نتایج ارشوو (۱۹۸۹) و سامی (۲۰۱۳) در مورد به، مبنی بر این که درصد تشکیل میوه بعد از دگرگرده‌افشانی به طور معنی‌داری بیش‌تر از درصد تشکیل میوه بعد از خودگرده‌افشانی است، مطابقت دارد.

مقایسه میانگین مربوط به تعداد بذر تشکیل شده در میوه نشان داد که در صفت تعداد بذر به ازای هر میوه اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ های گرده دهنده به جزء PK2 و KVD2 وجود داشت (جدول ۲). بیش‌ترین تعداد بذر مربوط

به تیمار گرده دهنده KM1 با ۲۹/۸ عدد بـذر بـه ازاء میوه و NB4 با ۲۶/۳ عدد بذر به ازاء میوه و کــم‌تــرین تعــداد بــذر مربــوط بــه تیمــار خودگرده‌افشانی با ۹/۴ عدد بذر به ازاء میوه بود. همچنین در میوه‌های به مـورد بررسـی در زمـان برداشت، هـیچ یـک فاقـد بـذر نبودنـد کـه ایـن مطلب نشان می‌دهد کـه در درختـان بـه تشـکیل میـوه بـه صـورت پارتنوکـارپی وجـود نـدارد و انجام لقاح برای تشکیل و رشـد میـوه ضـروری است. بررسی‌های میدانی نیـز نشـان داده کـه در باغـات بـه، میـوه‌هـایی کـه دارای جنـین نـاقص هستند، فقط قادر به حفظ میوه تا خرداد ماه بوده و پس از ریزش خرداد ماه هیچ میوه فاقد بـذر و یـا دارای بـذرهای نـاقص و سـقط شـده روی درخت باقی نخواهد نمی‌ماند.

مقایسه میانگین تاثیر تیمارهای گـرده‌افشـانی بـر صـفت وزن میـوه تشـکیل شـده، اخـتلاف معنــی‌داری را بــین ژنوتیــپ KM1 بــا ســایر ژنوتیپ‌ها نشـان داد (جـدول ۲)، امـا بـین تیمـار گـرده ژنوتیـپ KVD2 و گـرده‌افشـانی آزاد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بیش‌ترین وزن میوه با ۳۵۲ گرم مربـوط بـه تیمـار گـرده‌دهنـده ژنوتیـپ KM1 و کـم‌تـرین میـزان وزن میـوه بـا ۲۳۰ گرم مربوط به تیمار خودگرده افشانی بـود. مقایسه این نتایج بـا داده‌هـای حاصـل از درصـد تشکیل میوه و تعداد بذر بـه ازاء میـوه نشـان‌گـر ارتبـاط مسـتقیم تعـداد بـذر بـا انـدازه میـوه در درخت به است. اگرچه در درختان میوه دانـه‌دار نظیـر سـیب و گلابـی، تلقـیح زیـاد و همچنـین تشکیل بیش از حد زیاد میوه سبب سـال‌آوری و کوچــک شــدن انــدازه میــوه مــی‌شــود (Faust, 1989)، لیکن ارزیـابی‌هـای نشـان داده که به رقم اصفهان به دلیل ساختار باردهی خاص و وجود بخش‌های طویـل فاقـد اسـپور در طـول بازو که به عنوان یکی از شاخص‌های وابسته بـه این رقم محسوب مـی‌شـود از پتانسـیل بـاردهی کمی در مقایسه بـا بسـیاری دیگـر ژنوتیـپ‌هـا و ارقام نظیر رقم جدیـد پـردیس برخـوردار اسـت (Abdollahi, 2014). بر این اساس تشکیل زیاد میــوه در ایــن رقــم تــا بــیش از ۲۰ درصــد از شکوفه‌ها سبب کوچک شدن اندازه میـوه نشـده اسـت. از سـوی دیگـر دلیـل ایـن امـر مـی‌توانـد سـاختار تـک گـل بـودن درخـت بـه در انتهـای شاخه‌های بارده باشـد کـه از ایجـاد خوشـه‌هـای میـوه متـراکم و رقابـت کننـده روی درخـت بـه جلوگیری می‌کند.

اثر گرده‌افشانی بر خصوصیات کیفی میوه

تجزیه واریانس اثر تیمار ژنوتیپ گرده‌دهنده بیانگر تاثیر نوع گرده روی صفات کیفی میوه به اصفهان بود، اگرچـه دامنـه تغییـرات صـفات در مقایسه با صفات مربوط به میـزان بـاروری بسـیار کم‌تر مشـاهده بـود (جـدول ۳). در بررسـی اثـر تیمارهــای گــرده‌افشــانی بــر خصوصــیات کمی و کیفی میوه از نظر سـفتی بافـت، مقایسـه میانگین‌ها نشان داد بـین تیمارهـای گـرده‌دهنـده PK2، KVD2، NB4 و گــــرده‌افشــــانی آزاد اخـتلاف معنــی‌داری مشـاهده وجـود نداشـت

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مرتبط با تاثیر نوع گرده روی کیفیت میوه

Table 3. Analysis of variance of traits related to the effects of pollen type on fruit quality characteristics

		درجه آزادی	میانگین مربعات Mean of Squares		
S.O.V.	منابع تغییرات	df.	Total acid	TSS	Fruit Firmness
Rep	تکرار	3	0.001**	0.001**	0.001**
Genotype	ژنوتیپ	5	0.263**	2.423**	0.311**
Error	خطا	15	0.001	0.001	0.001

**: تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪. **: Significant difference at 1% level of probability.

(جدول‌های ۳ و ۴). کم‌ترین میزان سفتی بافت مربوط به تیمار خودگرده‌افشانی بود. از نظر میزان مواد جامد محلول نیز بین تیمار KM1 با تیمار گرده افشانی آزاد و خودگرده‌افشانی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. بیش‌ترین میزان مواد جامد محلول مربوط به تیمار KM1 و کم‌ترین میزان مربوط به تیمار خودگرده‌افشانی بود. بین بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری از نظر آماری وجود نداشت. از نظر میزان اسیدیته نیز وضعیت مشابه مواد جامد محلول بود، فقط اختلاف معنی‌داری بین تیمار خودگرده‌افشانی و گرده‌افشانی آزاد با KM1 مشاهده شد. از نظر بازارپسندی میوه، نتایج نشان داد که دانه گرده ژنوتیپ‌های مختلف بر خصوصیات ظاهری و پومولوژی میوه تاثیر قابل توجهی داشتند. میوه‌های حاصل از تیمار گرده‌افشانی KM1 و KVD2 دارای بازارپسندی خیلی خوب بود. همچنین به جزء میوه تولیدی از تیمار خودگرده‌افشانی، بقیه میوه‌ها از نظر بازارپسندی دارای کیفیت خوب بوده و همگی دارای شکل یکنواخت بودند. رنگ پوست در میوه‌های تولیدی از زرد روشن تا زرد تیره در ژنوتیپ‌های KVD2 و KM1 متغیر بود. رنگ گوشت میوه‌ها در همگی تیمارها کرم رنگ بود، همچنین از نظر رنگ بذر، عطر و طعم میوه اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. نتایج این تحقیق با نتایج نوزو و روبی (۲۰۰۴) در مورد میوه درخت به و طلایی و همکاران (Talaei *et al.*, 2007) در سیب بومی رقم شفیع آبادی و سایر ارقام سیب (Minh Tuan and Chung-Ruey, 2013) مبنی بر این که منابع گرده، اثر معنی‌داری بر درصد تشکیل میوه، وزن میوه، قطر، شکل، تعداد بذر و قند کل داشت، مطابقت دارد.

تکثیر آلل‌های *S* و رابطه آن با باروری

بررسی طول باندهای تولیدی حاصل از تکثیر DNA ارقام و ژنوتیپ‌های به مورد استفاده حاکی از امکان تکثیر مکان ژنی *S* در چهار ژنوتیپ از پنج ژنوتیپ بود. نتایج مقایسه توالی نواحی تکثیری ژنوتیپ‌های به با توالی‌های مکان‌های ژنی *S* به ودیعه گذاشته شده در بانک

جدول ۴- اثر تیمارهای مختلف گرده افشانی روی خصوصیات کمی و کیفی میوه به رقم اصفهان

Table 4. Effect of pollen type on quantitative and qualitative characteristics of quince fruits of cultivar Isfahan

گرده‌زا Pollinizer	سفتی بافت Fruit firmness	مواد جامد محلول TSS (%)	اسید کل (٪) Total acid (%)	یکنواختی میوه Fruit uniformity	رنگ گوشت Pulp color	رنگ پوست Peel color
KM1	6.3a	16.3a	3.1b	Uniform	Cream	Dark yellow
PK2	5.7bc	15ab	3.3ab	Uniform	Cream	Yellow
KVD2	5.9ab	14.7b	3.2ab	Uniform	Cream	Dark yellow
NB4	6.0ab	15.6ab	3.3ab	Semi-uniform	Cream	Yellow
KVD3 (Isfahan)	5.5c	14.2b	3.5a	Mod. ununiform	Cream	Light yellow
Open Pollination	5.8bc	14.6b	3.5a	Uniform	Cream	Yellow

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مختلف مشخص شده‌اند، اختلاف معنی دار با یک‌دیگر در سطح احتمال ۱ ٪ دارند.

Means followed by different letters in each column are significantly different at the 1% level of probability.

اطلاعـاتی بـا اسـتفاده از نـرم‌افـزار تحـت وب FastA بیانگر شباهت بالای این نواحی بـا سـایر آلل‌های *S* گونه‌های سـیب و گلابـی بـود.نتـایج طـول بانـدهای حاصـل از محصـولات واکـنش PCR در جـــدول ۵ آورده شــــده اســــت.

جدول ۵- طول باندهای حاصل از تکثیر مکان ژنی *S* در ژنوتیپ‌های مختلف به

Table 5. Length of amplified fragments on *S* locus in quince genotypes

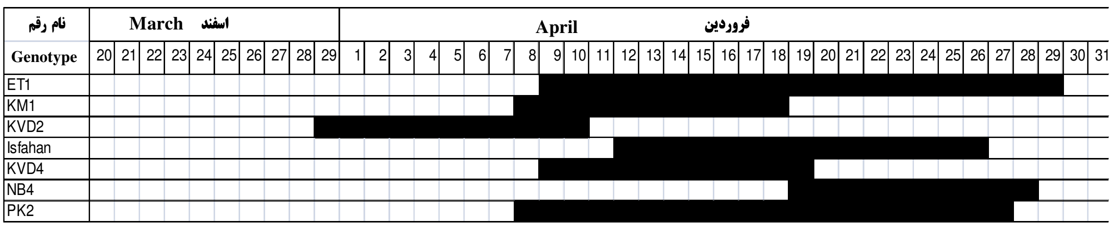
ژنوتیپ‌های به Quince genotypes	طول (جفت باز) و تعداد آلل‌های *S* تکثیر شده Length (bp) and number of amplified *S* alleles Allele I	Allele II
KM1	550	700
PK2	---	---
KVD2	600	---
NB4	600	800
KVD3 (Isfahan)	650	---

ایـن جـدول نشـانگر ایـن اسـت کـه در اغلـب ژنوتیپ‌های مـورد نظـر در ایـن تحقیـق حـداقل یـک یـا دو آلـل *S* بـا اسـتفاده از آغازگرهـای طراحی شده در نواحی حفاظت شده ایـن مکـان ژنی قابل تکثیر است. تنها در ژنوتیپ PK2 هیچ آللی با استفاده از جفت آغازگر مورد نظر تکثیر نشـد کـه ایـن عـدم وجـود قطعـه و یـا تغییـرات ژنتیکی ایجاد شده در این مکان ژنی می‌تواند بـا اسـتفاده از آغازگرهـای طراحـی شـده در سـایر مناطق حفاظت شده مورد تایید قرار گیرد. نکتـه جالب توجه دیگر در ژنوتیپ به KVD2 و رقـم اصفهان تنها وجود یک آلل *S* در این مکان ژنی بود که با توجه به نیمـه خودسـازگار بـودن بـه و امکان وجود خودگشنی‌هائی طبیعی تا تولید این ژنوتیـپ‌هـا، چنـین امـری چنـدان دور از انتظـار نیست. اما نکته قابل تامل دیگر وجود دو آلـل *S* در ژنوتیپ‌های به KM1 و NB4 بـود کـه نشـان می‌دهد این ژنوتیـپ‌هـا هماننـد دیگـر خویشـان خـود در خـانواده گلسـرخیان از جملـه سـیب و گلابی از دو آلل *S* متمایز از هم برخوردارند.

در رابطه با امکان تاثیر آلل‌های *S* موجود در ژنوتیـپ‌هـای بـه روی بـاروری رقـم بـه اصـفهان

چنین مشاهده می‌شود که دو ژنوتیپ KM1 و NB4 که هریک دارای دو آلل S بودند، سبب تولید بیش‌ترین تعداد بذر در میوه‌های حاصل شدند (جدول ۲). به نظر می‌رسد ارائه نظرات بیش‌تر در رابطه با ساختار مولکولی و ژنتیکی خودسازگاری- خود ناسازگاری و تاثیر وجود آلل‌های S در این امر نیاز به انجام بررسی دقیق‌تر و پیچیده‌تری دارد. لیکن آن چه از این تحقیق می‌توان جمع‌بندی کرد این است که در درخت به مکان ژنی S همانند سایر خویشاوندان این درخت موجود بوده و احتمال این می‌رود که نوع آلل S حاضر در این مکان ژنی، روی شدت خودسازگاری ژنوتیپ‌های این درخت تاثیرگذار باشد.

نتایج این بررسی در کشور نشان می‌دهد که درختان به رقم اصفهان اگرچه می‌توان بدون رقم گرده‌دهنده در باغ کشت کرد، لیکن استفاده از رقم گرده‌دهنده سبب افزایش قابل توجه باردهی و تشکیل میوه به میزان مطلوبی در این رقم خواهد شد. این آزمایش همچنین اثبات کرد که حداقل به رقم اصفهان، یک رقم نیمه خودسازگار بوده و استفاده از گرده غیرخودی سبب بهبود عملکرد و افزایش تشکیل میوه و بذر در آن خواهد شد. شاید این امر یکی از اصلی‌ترین دلایل تشکیل تعداد بذر بسیار زیاد در میوه‌های تشکیل شده روی درختان موجود در کلکسیون‌های این درخت در کشور باشد. نتایج همچنین ثابت کرد که گرده ژنوتیپ KM1 بهترین میزان تشکیل میوه و تولید بذر را نسبت به بقیه ژنوتیپ‌های مورد استفاده و شاهد گرده‌افشانی آزاد، به همراه داشت. علاوه بر این که بررسی نتایج هم‌پوشانی زمان گلدهی نیز بیانگر این است که اگرچه ژنوتیپ KM1، تا اندازه‌ای نسبت به رقم اصفهان زودگل‌تر است (شکل ۱)، لیکن طی سال‌های ارزیابی دوره گلدهی این رقم هم‌پوشانی نسبتاً قابل قبولی در رابطه با امکان استفاده از این ژنوتیپ به عنوان گرده‌زا برای به رقم اصفهان مشاهده شد.



شکل ۱- مقایسه زمان باز شدن شکوفه و طول دروه گلدهی ژنوتیپ‌های به
Fig. 1. Comparison on beginning and blooming period of quince genotypes

بر این اساس می‌توان این ژنوتیپ را به عنوان یک گرده‌زای مناسب از میان ژنوتیپ‌هایی که تاکنون در کشور مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند برای باغ‌های تجاری به رقم اصفهان معرفی و توصیه کرد. البته لازم به ذکر است با توجه به این که در مناطق مختلف کشور تنوع قابل

توجهی از ارقام بومی و ژنوتیـپ‌هـای بـه وجـود داشته و تاکنون همـه آن‌هـا از نظـر خصوصـیات میـوه، ارزش تجـاری شـدن و در نهایـت امکـان استفاده به عنوان رقم گرده‌زا بـرای دیگـر ارقـام تجاری مورد ارزیابی قرار نگرفته‌اند، ادامه انجام چنینی بررسـی‌هـائی مـی‌توانـد بـه معرفـی ارقـام گرده‌زای سازگارتر و یا دارای ارزش میوه بالاتر و یا همانند به رقم اصفهان و با هـم‌پوشـانی بهتـر زمان گلدهی منجر شود.از سـوی دیگـر بررسـی اطلاعات به ودیعه گذاشـته شـده در بانـک‌هـای اطلاعـاتی بیـانگر عـدم جداسـازی و شناسـائی آلل‌های خودناسازگاری در درخت به است کـه در این تحقیق نسبت به جداسازی بخشی از ایـن مکـان ژنـی و بررسـی امکـان وجـود تنـوع در آلل‌های آن پرداخته شـد. اگرچـه اطلاعـات بـه دست آمده در این تحقیق به منظور فهـم ارتبـاط آلـل‌هـای موجـود در درخـت بـه بـا شـدت خودناسازگاری و ارتباط آن با سایر مکـان‌هـای درگیـر در ایـن بحـث بسـیار انـدک و مقـدماتی است، لیکن شواهدی بر شباهت ایـن سـاختار بـا گونه‌های نزدیک هماننـد سـیب و گلابـی ارائـه شد که لازم است در آینده این ساختار نیز مورد بررسی دقیق‌تری قرار گیرد.

References

Abdollahi, H. 2014. Guidebook of Pome Fruits (Apple, Pear and Quince) Cultivation and Growing. Education and Extension Publisher, Tehran, Iran. 98pp. (in Persian).

Alipour, M., Abdollahi, H., **Abdousi, V., Ghasemi, A. A. Adli, M., and Mohamadi, M. 2014.** Evaluation of vegetative and reproductive characteristics and distinctness of some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes from different regions of Iran. Seed and Plant 30-1: 507-529 (in Persian).

Anonymous. 2013. Yearbook of Agricultural Products of Iran. Ministry of Jihad-e-Agriculture, Tehran, Iran. 250 pp. (in Persian).

Babaei, F., Abdollahi, H., and Hajmansoor, S. 2012. Identification of self-incompatibility alleles in some Iranian native pear cultivars by PCR method. Seed and Plant Improvement Journal 28-1 (2): 201-214 (in Persian).

Benedek, P., Szabó, T., and Nyéki, J. 2001. New results on the bee pollination of quince (*Cydonia oblonga* Mill.). Acta Horticulturae 561: 243-248.

Ershov, L. A. 1989. Biology of Quince Pollination. Reports of the Soviet Scientists to the 17th International Congress on Horticulture. Moscow, USSR. pp. 106-111.

Faust, M. 1989. Physiology of Temperate Zone Fruit Trees. John Wiley & Sons Incoprporation, New York, USA. 605pp.

Nagy-Déri, H., Orosz-Kovács, Z., and Farkas Á. 2013. Comparative studies on nectar from two self-fertile and two self-sterile cultivars of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) and their attractiveness to honeybees. The Journal of Horticultural Science & Biotechnology 88: 776-782.

Khorramdel Azad, M., Abdollahi, H., and Taeb, M. 2008. Optimization of DNA extraction from Iranian quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes. The 2nd International Student Conference of Biotechnology. 15-17 November, University of Tehran, Tehran, Iran. Page 39 (in Persian).

Manee, A. 1994. Pear and Quince, and their Growing. Iran Technical Publication Company, Tehran, Iran. 113 pp. (in Persian).

Minh Tuan, M., and Chung-Ruey, Y. 2013. Effect of various pollen sources on ability, fruit set and quality in 'Long Red B' wax apple. International Journal of Biological, Food, Veterinary and Agricultural Engineering 7: 74-77.

Nuzzo, V., and Rubbi, G. 2004. Description and Use of Quince for Fruit Production. Department of Pomology University of Potenza, Italy. 15pp.

Razavi, F., Arzani., F., and Vezvaee, A. 1999. Identification of local quince (*Cydonia oblonga*) genotypes in some parts of Isfahan province. Seed and Plant 15: 354-374 (in Persian).

Sabeti, H. 1995. Iranian Forests, Trees and Shrubs. Yazd University Publishers, Yazd, Iran. 810pp. (in Persian).

Sami, A. 2013. Evaluation of 2,4-D, pollination and nutrition treatment effects on fruit set of quince cultivar Isfahan in Semirom region. MSc. Thesis, Islamic Azad University of Isfahan, Isfahan, Iran. 74pp. (in Persian).

Talaei, A. R., Vahedi, B., Asgari, M. A., and Ershadi, A. 2007. Detection of best pollinizers for some Iranian apple cultivars. Iranian Journal of Horticultural Science 38: 241-250 (in Persian).

Ushijima, K., Sassa, H., Dandekar, A. M., Gradziel, T. M., Tao, R., and Hirano, H. 2003. Structural and transcriptional analysis of the self-incompatibility locus of almond: identification of a pollen-expressed F-box gene with haplotype-specific polymorphism. Plant Cell 15: 771-781.

Westwood, M. N. 1993. Temperate Zone Pomology: Physiology and Culture. Timber Press, Portland, Oregon, USA. 523 pp.

Zisovich, A. H., Stern R. A., Sapir, G., Shafir, S., and Goldway, M. 2004. The RHV region of S-RNase in the European pear (*Pyrus communis*) is not required for the determination of specific pollen rejection. Sexual Plant Reproduction 17: 151-156.